

# 海藻光合作用研究的极谱测定法\*

周 百 成

(中国科学院海洋研究所)

极谱法测定溶解氧的优点是：灵敏度高、反应快，能满足各种研究课题的特殊要求。这种方法与检压法和 Winkler 滴定法相比，有其独到之处，所以早在 20 世纪 30 年代就用它来研究光合作用。最初都沿用经典极谱法的滴汞电极作氧阴极，以后则多采用铂电极。

铂电极可分为大面积铂电极和微型铂电极两类，其中又有固定、旋转和振动等类型。按测定指标分，则有浓度测定装置及速率测定装置两大类。在光合作用研究工作中应用最广的是 Blinks 和 Skow<sup>[6]</sup> 创制的、后来又经过 Haxo 和 Blinks<sup>[14]</sup> 改进的大面积铂电极速率测定装置。近年来在此基础上建立了各种极谱测定装置<sup>[1,9,12,16]</sup>，以藻类、叶绿体和高等植物叶子为材料，观察光合作用中的各种现象<sup>[2-5,10,11,13-15,17-19]</sup>。目前，它已成为研究光合作用的重要工具之一。但是，这种方法虽然已被广泛采用，而关于装置特性的较详细的报导<sup>[1,14,16]</sup>却甚少。

从技术方面看，在海藻中有许多膜状的种类，有的海藻的藻体仅单层细胞厚，是这种测定法可用的最理想的材料。在测定这些海藻的光合作用性能时可以采用最简便的电极装置并获得较好的结果。这种方法对于测定海藻光合作用的一般特性及研究光合作用机制都很适用。

本文报导了全部采用我国生产的仪表和元件制造的测定装置及其特性，对 Haxo-Blinks 电极装置<sup>[14]</sup>的改进以及在海藻光合作用研究中试用的一些结果。

## 一、装 置

整个极谱装置包括电极、极谱线路、测量装置以及附加的恒温光源装置(图 1)。

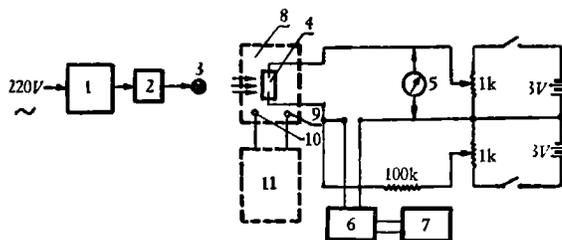


图 1 研究海藻光合作用的极谱装置

1. 磁饱和稳压器； 2. 调压变压器； 3. 白炽灯； 4. 电极和极化池； 5. 测电压仪表； 6. 分流器； 7. 检流计； 8. 恒温水浴； 9. 电热棒； 10. 温度调节器； 11. 电子继电器。

Fig. 1. The polarographic setup used for investigating the photosynthesis of marine algae. 1. Voltage stabilizer; 2. Voltage regulator; 3. Tungsten lamp; 4. Electrodes and polarographic vessel; 5. Voltmeter; 6. Shunt; 7. Galvanometer; 8—11. Temperature regulating system.

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 311 号。本工作是在导师曾呈奎教授和吴超元先生指导下完成的。本文承中国科学院化学物理研究所萧光球教授看过并提出许多宝贵意见，在工作中曾得到北京大学生物学系何抱塘、中国科学院海洋研究所郑舜琴、武宝珩和吴永成四位同志的帮助，特此志谢。

## 1. 电极装置

Haxo 和 Blinks<sup>[14]</sup> 对早期所用装置<sup>[6]</sup>作了改进。我们在此基础上设计了操作更简便

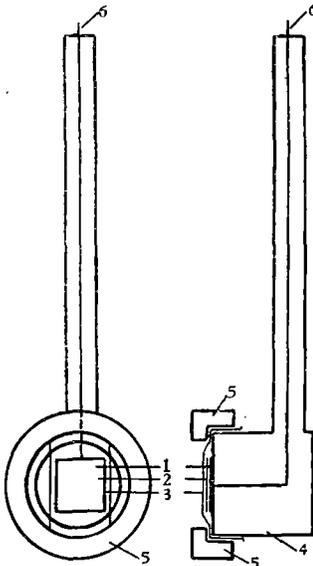


图2 铂电极装置剖面观

1. 铂电极; 2. 藻体; 3. 玻璃纸;  
4. 有机玻璃支架; 5. 固定藻体用的有机玻璃圆环; 6. 导线。

Fig. 2. Exploded view of platinum electrode arrangement.

1. Platinum electrode; 2. Algal thallus; 3. Cellophane strip; 4. Plastic supporter; 5. Plastic link used for holding the thallus; 6. Wire.

的铂电极(图2)。在面积为  $10 \times 10$  毫米的铂片上焊好导线,用门捷列夫粘合剂粘接在有机玻璃支架上,导线自支架中心引出。测定时取一片面积同电极相等或略小的海藻藻体置于铂电极上,用玻璃纸和一个有机玻璃圆环压紧,使藻体紧贴在铂电极上。这种电极省略了拧紧玻璃纸和固定藻体用的装置,代之以有机玻璃圆环,因此操作就更方便。此外,作电极的铂片也由弧形的改成平的,这样贴在它上面的藻体也是平的,受光比弧形的更均匀。

极化池为容积比较大的玻璃培养缸,内装天然海水。将铂阴极和饱和甘汞电极(参比电极)插入海水中。插有电极的极化池放在恒温水浴中。在测量过程中,极化池中的海水静止不动。

## 2. 极谱线路和测量装置

极谱线路系参照 Myers 和 Graham<sup>[16]</sup> 的报导装配的。在线路中还附有一个调节读数零点的补偿装置。电极电流可用国产 1070-B 型多次反射灵敏检流计测量(灵敏度  $9.4 \times 10^{-9}$  安/毫米,内阻 82 欧姆),对测量线路亦作了相应的修改(图1)。为便于选择最适合的灵敏度,在检流计前还加了一个分流器。除用检流计外,也可按上述线路<sup>[16]</sup>,通过一个串联在线路中的电阻,将电流讯号转变成电位差讯号,然后用 ЭПМ-09 自动记录电子电位差计(上海大华仪表厂出品)进行自动记录。

## 3. 恒温 and 光源装置

溶解氧向电极扩散的速率和光饱和时的光合速率均受温度影响,所以测量时应保持恒温。恒温装置包括水浴、搅拌马达、升温用电热棒、温度调节器和电子继电器。

光源用白炽灯,装在光具座上。光强度用改变灯和铂电极间的距离的方法调节,用水下照度计沉入恒温水槽中测定。用磁饱和稳压器及调压变压器稳定和调节光源电压。

## 二、特性和应用

### 1. 扩散层的形成和预极化

用与空气平衡的天然海水作支持电解质,在  $15.2^\circ\text{C}$  下,于铂电极上加  $-1.4$  伏的电压(相对于饱和甘汞电极的电压,下同)并记录电极电流随时间的变化,得到图 3A 的曲线。这种电流随时间而下降,最后渐趋稳定的过程说明在铂电极附近的扩散层是逐渐形成的。因此,在接通电极电源后,应经过一段预极化的过程,待电流稳定后再开始测定。

### 2. 氧的电流-电压曲线

溶解氧的电流-电压曲线是选择测量电压的依据。当用滴汞电极作阴极时,曲线上有

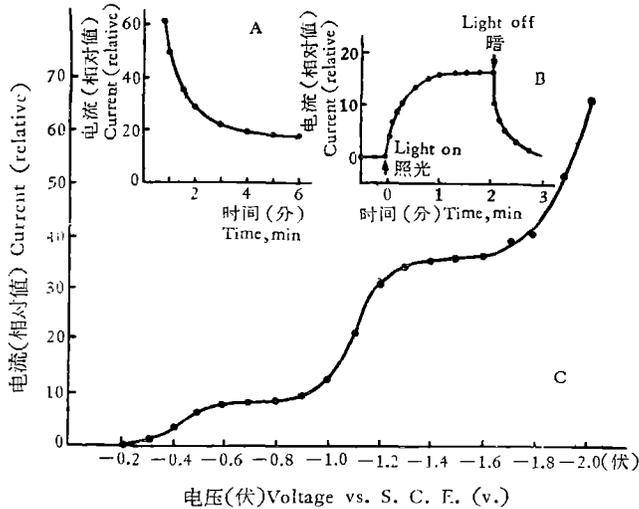


图3 极谱装置的特性曲线

A. 在天然海水中测得的时间-电流曲线(电压,  $-1.4$  伏, 相对于饱和甘汞电极; 温度,  $15.2^{\circ}\text{C}$ ); B. 囊藻膜光合作用放氧的时间进程曲线(在天然海水中测定; 温度,  $10.0^{\circ}\text{C}$ ; 光源, 白炽灯; 光强,  $485$  米烛); C. 天然海水中溶解氧的电流-电压曲线(温度,  $15.0^{\circ}\text{C}$ ).

Fig. 3. The characteristic curves of polarographic setup.

A. Time-current curve measured in natural sea water. (Voltage,  $-1.4$  v. vs S. C. F.; temperature,  $15.2^{\circ}\text{C}$ ); B. Time course curve of oxygen production by photosynthesis of *Monostroma angicava*. (In natural sea water; temperature,  $10.0^{\circ}\text{C}$ ; light source, tungsten lamp; light intensity,  $485$  lux); C. The current-voltage curve of dissolved oxygen in natural sea water. (Temperature,  $15.0^{\circ}\text{C}$ ).

两个阶;用振动或旋转微铂电极时只出现第一阶<sup>[7]</sup>;用大面积铂电极时亦常选用位于第一阶上的电压,如  $-0.5$  伏<sup>[1,6,14,16]</sup>。然而 Blinks 和 Skow<sup>[6]</sup> 亦曾试用位于第二阶上的电压,并得到相似的结果。

值得注意的是溶解氧的电流-电压曲线的形状和阶的位置随氧阴极的种类和构造,参比电极的种类,支持电解质的性质以及测量条件的不同而有所差别<sup>[7]</sup>。所以测定用的电压也应根据具体情况加以选择。在我们的条件下测得的电流-电压曲线有两个阶,分别位于  $-0.5$ — $-0.9$  伏和  $-1.3$ — $-1.7$  伏(图 3c)。根据这一结果,作者曾选用位于第一阶上的  $-0.7$  伏和位于第二阶上的  $-1.3$  伏(或  $-1.4$  伏)进行海藻光合作用的测定。对典型的时间进程曲线、诱导现象以及光合作用光曲线等进行了初步测定,结果表明选用位于第二阶上的电压也是可行的,并证明,在适当的条件下可以发挥它的还原电流大、灵敏度高等优点,用以测定海藻光合作用的细微变化。

### 3. 时间进程曲线

光合作用放氧的时间进程曲线是测定其光曲线和作用光谱的依据<sup>[14]</sup>。我们对数种海藻进行了观察。在  $-1.3$  伏(或  $-1.4$  伏)测得的曲线的形状同我们在  $-0.7$  伏以及 Haxo 和 Blinks<sup>[14]</sup> 在  $-0.5$  伏测得的十分相似,但灵敏度较高。以囊藻膜(*Monostroma angicava*)的曲线为例,示于图 3B。

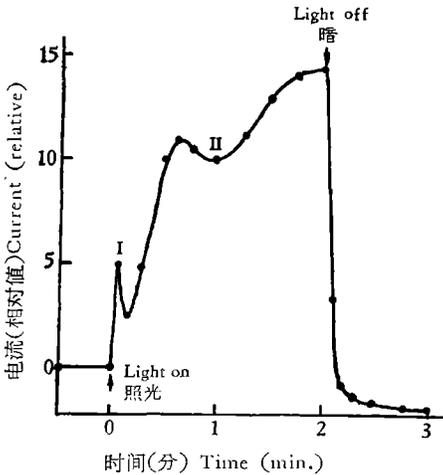


图 4 孔石蓴光合作用放氧的诱导现象  
I. 氧“涌出”; II. 第二波。

Fig. 4. The induction phenomenon of the oxygen production by photosynthesis of *Ulva pertusa*.

I. Oxygen “gush”; II. Second wave.

这种装置对光合作用过程中放氧速率的快速变化有良好的分辨力,可以观察海藻光合作用诱导等现象。图 4 就是孔石蓴 (*Ulva pertusa*) 在诱导期内的放氧时间进程曲线。其中清晰地显出了照光之初出现的氧“涌出”(oxygen “gush”)和随后出现的第二波(second wave)。氧“涌出”现象在照光后 15 秒钟之内即完成,用这种装置却能观察到,这样高的分辨力是其它许多方法难以达到的。有关诱导现象的结果将另文报导。

#### 4. 光曲线

根据在不同波长的单色光下测得的时间进程曲线,可以获得光合作用的作用光谱<sup>[1]</sup>。同理,根据在不同光强的白光下测得的时间进程曲线就可以得到光合作用的光曲线。作者曾在 -1.3 伏 (或 -1.4 伏) 测定了数种海藻的光曲线。以囊礁膜的结果为例(见图 5),其中曲线 2 是曲线 1 中低光强部分的放大,说明在一定范围内光合速率与光强有良好的线性关系,这同通常所得的光曲线的特征相符。同时它也说明了在第二阶的电压下,电极电流与放氧速率有良好的线性关系,可以作为测定光合速率的指标。

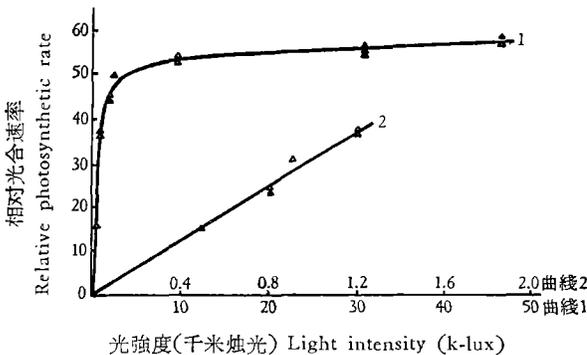


图 5 囊礁膜光合作用的光曲线(在天然海水中测得;温度, 10.0°C;光源,白炽灯)

1. 光曲线; 2. 曲线 1 的低光强部分的放大,示光合速率与光强的线性关系。

Fig. 5. The light curves for the photosynthesis of *Monostroma angicava*. (In natural sea water; temperature, 10.0°C; light source, tungsten lamp).

1. Light curve; 2. Curve at low light intensity, being enlargement of the lower intensity portion in curve 1, showing photosynthetic rate as the linear function of light intensity.

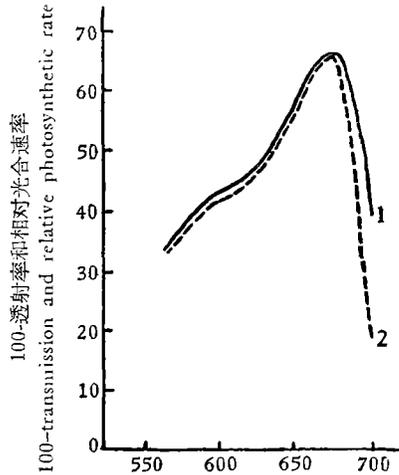


图 6 肠浒苔的红光区吸收光谱和光合作用作用光谱

1. 吸收光谱; 2. 作用光谱。

Fig. 6. The photosynthetic action spectrum and absorption spectrum of *Enteromorpha intestinalis* in red spectral region.

1. Absorption spectrum;  
2. Action spectrum.

## 5. 作用光谱

在不同波长的单色光照下,应用上述装置中的检流计或自动记录仪测得的光合速率数据,就可以获得海藻光合作用的作用光谱。图6所示为绿藻肠浒苔 (*Enteromorpha intestinalis*) 的红光区作用光谱。测定时用上海分析仪器厂制造的72型分光光度计的单色仪获得单色光,用ЭПП-09自动记录电子电位差计记录与放氧速率成正比的电位差讯号。将所得数据作等量子数换算,求得光量子数相等时各种波长光照下的光合速率,然后将这些光合速率对波长作图,即得作用光谱。此外,还测出了同一藻体的吸收光谱,画入图中,以资比较。吸收光谱系按Shibata的乳白玻璃法<sup>[20]</sup>,用72型分光光度计测得。

将作用光谱和吸收光谱加以比较,可见在红光峯的短波侧两者吻合较好,而在靠近700毫微米的远红光区域,光合速率的下降比吸收率的下降快,由此清晰地显出了众所周知的Emerson红降现象。一般要在单色仪提供的光强下测定海藻光合作用的作用光谱是比较困难的,但极谱法却能在很弱的单色光下测出光合速率的变化,这足以显示其高灵敏度。

综上所述,全部采用国产仪表和元件建立了测定海藻光合作用性能的极谱装置,对铂电极作了改进,并获得了有关这套装置的各种特性的资料(包括溶解氧的电流-电压曲线及应用其第二阶的可能性)。试用结果表明可用它测定海藻光合作用的诱导现象,光曲线和作用光谱,是研究海藻光合作用的有效工具。

## 参 考 文 献

- [1] Литвин, Ф. Ф., Хэ И-тань., и Е. И. Ефимцев, 1965. Полярнографический метод исследования кинетика и спектров действия фотосинтеза. *Физиол. Растений*, **12**(2):364—370.
- [2] Blinks, L. R., 1957. Chromatic transients in photosynthesis of red algae in "Research in Photosynthesis". Ed. by H. Gaffron, A. H. Brow, C. S. French, R. Livingston, E. I. Rabinowitch, B. L. Strehler and E. Tolbert. Interscience Publishers, New York. p. 444—450.
- [3] Blinks, L. R., 1959. Chromatic transients in the photosynthesis of a green alga. *Plant Physiol.*, **34**(3): 200—203.
- [4] Blinks, L. R., 1960. Chromatic transients in the photosynthesis of green, brown, and red algae. in "Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems". Ed. by M. B. Allen. Acad. Press, Inc. New York. p. 367—376.
- [5] Blinks, L. R., 1960a. Action spectra of chromatic transients and the Emerson effect in marine algae. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **46**(3):327—333.
- [6] Blinks, L. R. and R. K. Skow, 1938. The time course of photosynthesis as shown by a rapid electrode method for oxygen. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **24**(10):420—427.
- [7] Davies, P. W., 1962. The oxygen cathode. in "Physical Techniques in Biological Research". Ed. by W. L. Nastuk. Acad. Press, Inc., New York and London. Vol. IV. p. 137—179.
- [8] Fork, D. C., 1961. Light dependent oxygen uptake in red algae chloroplasts. *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, **60**:369—370.
- [9] Fork, D. C., 1962. A teflon-covered electrode assembly. *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, **61**:334—343.
- [10] Fork, D. C., 1963. Action spectra for O<sub>2</sub> evolution by chloroplasts with and without added substrate, for regeneration of O<sub>2</sub> evolving ability by far-red, and for O<sub>2</sub> uptake. *Plant Physiol.*, **38**(3): 323—332.
- [11] French, C. S., and D. C. Fork, 1961. Two primary photochemical reactions in photosynthesis driven by different pigments. *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, **60**:351—357.
- [12] French, C. S., G. C. McLeod, and J. Myers, 1960. Automatic recording of photosynthetic action spectra used to measure the Emerson enhancement effect. in "Comparative Biochemistry of Photoreactive

- Systems". Ed. by M. B. Allen. Acad. Press, New York. p. 361—365.
- [13] Haxo, F. T., 1960. The wavelength dependence of photosynthesis and the role of accessory pigments. in "Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems". Ed. by M. B. Allen. Acad. Press, New York. p. 339—360.
- [14] Haxo, F. T. and L. R. Blinks. 1950. Photosynthetic action spectra of marine algae. *J. Gen. Physiol.*, **33**(4):389—422.
- [15] McLeod, G. C., 1961. Action spectra of light-saturated photosynthesis. *Plant Physiol.*, **36**(1):114—117.
- [16] Myers, J., and Jo-Ruth Graham, 1963. Further improvements in stationary platinum electrode of Haxo and Blinks. *Ibid.*, **38**(1):1—5.
- [17] ———, 1963a. Enhancement in Chlorella. *Ibid.*, **38**(1):106—116.
- [18] Šetlík, I., 1957. Pheriodic phenomena in photosynthesis as reflected by oxygen change of blue-green algae. *Biochim. Biophys. Acta*, **24**(2):434—435.
- [19] ———, 1957a. Light-dark transients in oxygen exchange of blue-green algae. *Ibid.*, **24**(2):436—437.
- [20] Shibata, K., 1958. Spectrophotometry of intact biological materials. Absolute and relative measurements of their transmission, reflection and absorption spectra. *J. Biochem.*, **45**(8):599—623.

## ON THE POLAROGRAPHIC TECHNIQUE IN THE PHOTOSYNTHETIC STUDIES OF MARINE ALGAE

B. C. ZHOU

(*Institute of Oceanology, Academia Sinica*)

### ABSTRACT

In the present report, the polarographic technique for use in the photosynthetic studies of membranous marine algae is described. Some modifications of the stationary platinum electrode of Haxo and Blinks<sup>[14]</sup> were made to increase the uniformity of irradiation by placing the membranous thallus tightly against the plane platinum electrode and to simplify the experimental procedure. The characteristics of the resulting setup were noted and trial investigations on the induction phenomenon, light curves and action spectra of the photosynthesis of some local marine algae were successfully conducted by employing the setup.